4 月 April
2019, 62(4): 489 – 505
昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA
http://www.insect.org.cn
doi: 10.16380/j.kcxb.2019.04.011

昆虫免疫致敏研究进展

张 鹤, 黄舒宁, 蒲宇辰, 石章红, 侯有明*

(福建农林大学, 闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室/福建省昆虫生态重点实验室, 福州 350002)

摘要: 通常认为昆虫缺少获得性免疫(acquired immunity)且完全依赖天然免疫系统(innate immune defense system)来应对病原微生物的感染。然而越来越多的研究表明,昆虫等无脊椎动物早期的病原菌感染经历能够增强后期遭遇病原感染时的免疫力,这种现象称为免疫致敏(immune priming)。类似于脊椎动物的获得性免疫,一些昆虫在致敏后可以展现出极大程度的特异性和记忆性,致敏保护效应甚至可以达到种或菌株水平的特异性,并且可以跨代传递。昆虫在体内缺乏获得性免疫分子元件的基础上,仍然可以实现免疫的记忆性和特异性,说明昆虫的天然免疫系统存在独特的机制来调控该过程。本文综述了昆虫免疫致敏和跨代传递的研究进展,探讨了昆虫免疫致敏发生的特定条件及影响因素,并对昆虫免疫致敏和跨代传递的潜在调控机理进行了阐述。此外,免疫致敏本身可能是耗能的过程,本文也从致敏可塑的角度探讨了致敏反应的适应性代价。最后,对昆虫免疫致敏未来的研究方向以及在害虫防治中的应用前景进行了展望。

关键词: 昆虫; 免疫; 免疫致敏; 跨代传递; 免疫记忆; 致敏特异性; 适应性代价

中图分类号: Q966　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 0454-6296(2019)04-0489-17

Advances in insect immune priming

ZHANG He, HUANG Shu-Ning, PU Yu-Chen, SHI Zhang-Hong, HOU You-Ming* (State Key Laboratory of Ecological Pest Control for Fujian-Taiwan Crops, Key Laboratory of Insect Ecology in Fujian, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Generally, insects lack acquired immunity and only rely on their innate immune defense system to deal with the infection of pathogenic microbes. However, an increasing number of studies show that early pathogenic infection experiences of invertebrates including insects can enhance the immunity to later pathogenic infection, and this phenomenon is called "immune priming". Like the acquired immunity of vertebrates, some insects show a great degree of specificity and ability of memory after priming. This kind of improved protection can be species/strain-specific, and can be passed on to the next generation. Even though insects lack acquired immune molecular components, they can still achieve the memory and specificity of immunity, suggesting that there is a unique mechanism regulating this process in the innate immune system of insects. In this article we mainly illustrated the progress of studies on immune priming and trans-generational transmission, and discussed the specific conditions and influencing factors of insect immune priming as well. Furthermore, we also mentioned the potential regulatory mechanism of insect immune priming and trans-generational transmission. Besides, considering that the immune priming itself could be an energy-consuming process, we also argued the cost of immune priming from the aspect of priming plasticity. Finally, we brought forward the prospects of research

基金项目: 国家自然科学基金海峡联合基金重点项目(U1705232); 国家自然科学基金项目(31872033); 国家重点研发计划课题(2017YFC1200605)

作者简介: 张鹤, 男, 1989 年 12 月生, 山西晋城人, 博士研究生, 研究方向为昆虫生态与害虫综合治理, E-mail: zhhe1205@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: ymhou@fafu.edu.cn

收稿日期 Received: 2018-09-20; 接受日期 Accepted: 2019-01-25

directions of insect immune priming and its potential application in pest control in the future.

Key words: Insect; immunity; immune priming; trans-generational transmission; immune memory; priming specificity; fitness cost

生物在长期面对外界各种不良环境压力和病原体侵染的过程中逐渐进化出了天然免疫(innate immunity)和后天获得性免疫(acquired immunity)两种免疫防御系统。天然免疫相对简单,广泛存在于多细胞有机体中,具有广谱性和非特异性,主要由颗粒细胞、巨噬细胞和天然杀伤细胞等天然免疫细胞以及补体、抗菌肽和防卫素等天然免疫分子组成。而后天获得性免疫则相对高级和复杂,能够通过免疫球蛋白基因重排产生特异性抗体以及记忆 B 细胞和记忆 T 细胞,从而实现免疫的记忆性和特异性,一般认为它是进化到脊椎动物时才出现的免疫响应方式(Dempsey *et al*., 2003; 吕鸿声, 2008; Iwasaki and Medzhitov, 2015)。因此,昆虫作为无脊椎动物由于不具备各种类型的免疫球蛋白,完全依赖于天然免疫响应来应对病原微生物的感染,所以通常认为昆虫的免疫不具备记忆性和特异性(吕鸿声, 2008; Hillyer, 2016)。然而,越来越多的研究表明昆虫等无脊椎动物早期的病原菌感染经历能够增强后期遭遇病原感染时的免疫力,这种现象称为免疫致敏(immune priming),该现象类似于脊椎动物的获得性免疫,可以展现出极大程度的特异性和记忆性,一些昆虫在病原致敏后可以达到种或菌株水平的免疫保护效应,并且这种效应还可以通过亲代传递给子代,称为跨代免疫致敏(trans-generational immune priming, TgIP)(Kurtz and Franz, 2003; Pham and Schneider, 2008; Cooper and Eleftherianos, 2017)。昆虫能够在体内缺乏特异性抗体的基础上实现免疫的记忆性和特异性,这说明无脊椎动物的天然免疫系统远比想象中的复杂,它们存在独特的生理和分子机制来调控免疫致敏效应(Loker *et al*., 2004; Hauton and Smith, 2007; Brehélin and Roch, 2008; Muller *et al*., 2008)。

目前,通过生存分析以及免疫响应等方法已经在许多昆虫中发现了免疫致敏现象(Eleftherianos *et al*., 2006; Pham *et al*., 2007; Tidbury *et al*., 2011; Daukšte *et al*., 2012; Contreras-Garduño *et al*., 2014; Miyashita *et al*., 2014; Milutinović *et al*., 2016; Taszlow *et al*., 2017)。这些结果表明,用不同的感染物进行感染时可以获得不同程度的致敏特异性和致敏效能,且特异性程度取决于宿主与感染物的特定组合以及致敏发生的特定条件等(表 1),而不同程度免疫致敏则可能依赖于多样化的调控机制(Milutinović *et al*., 2016)。同时,免疫致敏效应还可以在同一虫态、变态后(Moreno-García *et al*., 2015)和跨代后(Dubuffet *et al*., 2015)持续存在,但目前有关免疫致敏效能的持续程度和动态传递效能并不清楚(Tate *et al*., 2017)。因此,昆虫存在着复杂且多样化的免疫致敏机理,尽管现在对昆虫免疫致敏的机制有了一定的认识和推测,但仍停留在表象,且很多机制尚未得到充分验证。同时,关于免疫致敏的效应分子、信号通路以及各个机制之间的联系有待于进一步深入探讨。此外,免疫致敏本身可能是耗能的过程,这预示着免疫反应的消耗与其他生物学过程之间的权衡,再加上依赖环境的病原暴露是高度可变的,昆虫可能已经进化出了强大的致敏可塑能力,从而实现最优的适应性权衡,但这种权衡机制也尚未得到较好的阐释。本文概述了昆虫免疫致敏和跨代传递的研究现状,分析了昆虫免疫致敏与跨代传递的影响因素、潜在调控机制以及适应性代价,并对昆虫免疫致敏未来的研究方向以及在害虫防治中的应用前景等进行了展望。

1 昆虫免疫致敏的特征与潜在机制

1.1 昆虫免疫致敏的路径及影响因素

昆虫免疫致敏的研究通常用低浓度或灭活的病原微生物或者病原微生物的组分来致敏宿主昆虫,然后进行病原二次感染,通过宿主的生存分析以及免疫强度测定来评估致敏保护效应(Schmid-Hempel, 2005; Milutinović *et al*., 2016)。致敏可以促使宿主在二次感染中启动更快更强的免疫力来清除体内的病原,进而提高在病原感染下的生存率(Moret and Siva-Jothy, 2003; Eleftherianos *et al*., 2006)。免疫致敏的现象已经在很多昆虫中报道(表 1)。重要的是,这些研究在实验设计方面有很大的不同(Milutinović *et al*., 2016),如在致敏方式上选择喂食致敏或注射致敏,在致敏原上选择致病或非致病的细菌、真菌、病毒以及它们的生物组分或代谢产物等进行致敏,在二次感染过程中进行致敏同源感染和致敏异源感染, 在宿主上选择不同的性

表 1　已报道的昆虫特异性免疫致敏现象

Table 1　Reported phenomena of insect specific immune priming

宿主昆虫 Insect host	病原菌 Pathogen	路径 Route	响应测试 Measured response	参考文献 References
欧洲熊蜂 *Bombus terrestris*	荧光假单胞菌 *Pseudomonas fluorescens*（革兰氏阴性 Gram⁻） 蜂房芽孢杆菌 *Paenibacillus alvei*（革兰氏阳性 Gram⁺） 幼虫芽孢杆菌 *Paenibacillus larvae*（革兰氏阳性 Gram⁺）	注射 Septic	生存分析 Survival analysis	Sadd and Schmid-Hempel, 2006
黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*	绿脓杆菌 *Pseudomonas aeruginosa*（革兰氏阴性 Gram⁻） 肺炎双球菌 *Streptococcus pneumoniae*（革兰氏阳性 Gram⁺） 白僵菌 *Beauveria bassiana*（真菌 Fungus）	注射 Septic	生存分析 Survival analysis 生存分析 Survival analysis 病原清除能力 Bacterial clearance 吞噬活性 Phagocytic inhibition	Christofi and Apidianakis, 2013 Pham *et al*., 2007
赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*	苏云金芽孢杆菌 *Bacillus thurigiensis*（革兰氏阳性 Gram⁺） 枯草芽孢杆菌 *Bacilus subtilis*（革兰氏阳性 Gram⁺）	注射 Septic	生存分析 Survival analysis	Roth *et al*., 2009
	苏云金芽孢杆菌过滤消毒后的培养液 *Bacillus thurigiensis* filter-sterilized media（革兰氏阳性 Gram⁺）	口服 Oral	生存分析 Survival analysis 基因表达 Gene expression	Milutinović *et al*., 2014 Greenwood *et al*., 2017； Futo *et al*., 2017
冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae*	伯氏疟原虫 *Plasmodium berghei*	口服 Oral	感染强度 Infection intensity 血细胞分化 Haemocyte differentiation	Rodrigues *et al*., 2010
家蚕 *Bombyx mori*	大肠杆菌肽聚糖 *Escherichia coli* peptidoglycans（革兰氏阴性 Gram⁻）	注射 Septic	生存分析 Survival analysis	Miyashita *et al*., 2014
	发光杆菌 *Photorhabdus luminescens*（革兰氏阴性 Gram⁻） 苏云金芽孢杆菌 *Bacillus thuringiensis*（革兰氏阳性 Gram⁺）		基因表达 Gene expression 生存分析 Survival analysis 吞噬活性 Phagocytic activity	Wu *et al*., 2015a
大蜡螟 *Galleria mellonella*	发光杆菌 *Photorhabdus luminescens*（革兰氏阴性 Gram⁻） 苏云金芽孢杆菌 *Bacillus thuringiensis*（革兰氏阳性 Gram⁺）	注射 Septic	生存分析 Survival analysis 抗菌活性 Antibacterial activity 血细胞密度 Haemocyte density 吞噬活性 Phagocytic activity 包囊作用 Encapsulation	Wu *et al*., 2014
黄粉虫 *Tenebrio molitor*	苏云金芽孢杆菌 *Bacillus thuringiensis*（革兰氏阳性 Gram⁺） 金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae*（真菌 Fungus）	注射 Septic	生存分析 Survival analysis	Medina *et al*., 2018
印度谷螟 *Plodia interpunctella*	PiGV（DNA 病毒 DNA virus）	口服 Oral	感染强度 Infection intensity	Tidbury *et al*., 2011

别或不同生理状态下的昆虫进行致敏等。而不同情况下致敏的效果也存在着显著的差异，这表明致敏效果与其发生的特定形式有关，且受到多方面因素的影响或制约。

首先，喂食和注射是两种主要的致敏感染方式。昆虫针对不同的感染方式启动不同的免疫防御策略

(Martins *et al*., 2013),例如,赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 注射感染和喂食感染苏云金芽孢杆菌 *Bacillus thuringiensis* (Bt)后激活的生理和免疫响应明显不同(Behrens *et al*., 2014)。因此,两种方式实现致敏保护的途径可能也存在不同。喂食感染是直接在食物中添加致敏原,致敏原随食物进入肠道引起昆虫的肠道免疫以及血腔免疫从而达到致敏保护的作用,这种方式更接近自然状态下昆虫的病原感染方式,能够避免直接引起宿主的损伤,而损伤本身就能引起宿主强烈的免疫反应(Johnston and Rolff, 2013; Behrens *et al*., 2014)。注射感染是直接将致敏原注入昆虫血腔,该方法可以很好地控制病原的感染量,并在体内快速引起宿主强烈的免疫响应(Roth *et al*., 2009; Tate and Graham, 2015)。通常两种感染方式都可以使宿主昆虫处于致敏保护的状态,但致敏效率却存在差别,喂食感染通常要饲喂一定浓度的活性病原才能达到致敏的目的(Futo *et al*., 2017),而注射感染中注射灭活的病原甚至生理盐水都可实现致敏(Roth *et al*., 2009),这是由于喂食感染的病原要通过消化道和肠道的屏障进入血腔才能达到致敏的目的,而注射感染能直接引起血腔强烈的免疫响应达到致敏。同时,这也说明两种感染方式存在一定的联系,虽然不同感染途径引起的免疫响应和致敏效应不同,但最终都是在血腔中实现致敏保护(Milutinović *et al*., 2016)。因此,一种方式的感染致敏能够为宿主提供多方面的免疫保护,如喂食粘质沙雷氏菌 *Serratia marcescens* 致敏的赤拟谷盗 *T. castaneum*,能够提升其在粘质沙雷氏菌注射感染下的生存优势(Mikonranta *et al*., 2014)。

其次,昆虫生活史过程中面临着不同病原微生物感染的可能,如细菌、真菌、病毒等,昆虫面对不同类型的病原感染也有着不同的免疫响应通路,如对真菌及革兰氏阳性菌感染应答过程主要是 Toll 通路,而 IMD 途径主要在抗革兰氏阴性菌感染中起作用(吕鸿声, 2008; Buchon *et al*., 2014),抗病毒则有小 RNA 导向的抗病毒免疫通路(Kingsolver *et al*., 2013; Whitfield *et al*., 2017)。因此,在昆虫致敏研究中选择了不同类型的病原物研究其免疫致敏的潜能。例如,在黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 的研究中,不同类型的病原菌肺炎双球菌 *Streptococcus pneumoniae* (革兰氏阳性菌)、白僵菌 *Beauveria bassiana* (真菌)、鼠伤寒沙门氏菌 *Salmonella typhimurium* (革兰氏阴性菌)、单增李斯特菌 *Listeria monocytogenes* (革兰氏阳性菌),海鱼分支杆菌 *Mycobacterium marinum* (革兰氏阳性菌)能够诱导不同程度的致敏保护效能,增强宿主在病原二次病原感染中的存活率(Pham *et al*., 2007);印度谷螟 *Plodia interpuctella* 在低浓度天然 DNA 病毒感染致敏后能降低个体对该病毒的敏感性(Tidbury *et al*., 2011);疟原虫 *Plasmodium* 感染致敏的冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* 能在二次感染时显著降低机体疟原虫的数量(Rodrigues *et al*., 2010)。除了病原本身能引起宿主昆虫的致敏响应外,其组成成分和代谢物也可引起致敏,如细菌细胞壁组分脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)可以诱导黄粉虫 *Tenebrio molitor* 免疫致敏(Moret and Siva-Jothy, 2003),给赤拟谷盗 *T. castaneum* 饲喂过滤掉 Bt 菌体的培养液也可诱导宿主致敏(Milutinović *et al*., 2014; Greenwood *et al*., 2017)。除此之外,环境压力(如温度刺激等)以及生理压力(如震动等)等也能诱导宿主致敏(Browne *et al*., 2014)。然而,除去致敏病原种类的差别外,致敏源的浓度也影响着昆虫致敏保护的效果,如在大蜡螟 *Galleria mellonella* 的致敏研究中,致敏保护的水平与致敏病原的浓度呈正相关(Wu *et al*., 2014, 2015b)。

第三,在昆虫致敏研究中致敏-二次感染的组合可以分为致敏-同源感染和致敏-异源感染,这两种组合在研究免疫致敏的特异性程度中发挥重要作用(Kurtz, 2005; Contreras-Garduño *et al*, 2016; Cooper and Eleftherianos, 2017)。在致敏-异源感染研究中诱导的是一些属于广谱的、非特异性的免疫致敏,如:用细菌组分脂多糖诱导黄粉虫 *T. molitor* 产生免疫致敏后能够增强其对金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae* 的抵抗能力(Moret and Siva-Jothy, 2003);给烟草天蛾 *Manduca sexta* 幼虫注射热杀死的大肠杆菌 *Escherichia coli* 致敏后,能够增强其在致病菌发光杆菌 *Photorhabdus luminescens* 感染下的存活率(Eleftherianos *et al*., 2006)等。而致敏-同源感染则可进一步探讨致敏响应的特异性(表 1),如:用荧光假单胞菌 *Pseudomonas fluorescens*(革兰氏阴性菌)以及两种近缘的革兰氏阳性菌(蜂房芽孢杆菌 *Paenibacillus alvei* 和幼虫芽孢杆菌 *P. larvae*)感染欧洲熊蜂 *Bombus terrestris*,使其产生免疫致敏,二次感染后表明使用同源菌株感染的存活率显著高于异源菌株感染的存活率,显示该免疫致敏具有高度特异性(Sadd and Schmid-Hempel, 2006);5 种病原致敏黑腹果蝇 *D. melanogaster* 的研究中发现并不是所

有病原感染都可诱导特异性免疫致敏响应，只有肺炎双球菌 *S. pneumoniae* 和白僵菌 *B. bassiana* 致敏能够为同源病原感染提供特异性免疫保护，且肺炎双球菌的致敏特异性程度显著高于白僵菌（Pham *et al.*, 2007）；黄粉虫 *T. molitor* 幼虫对苏云金芽孢杆菌 *B. thuringiensis* 以及金龟子绿僵菌 *M. anisopliae* 的致敏-同源感染能够比粘质沙雷氏菌 *S. marcescens* 致敏-同源感染展现出更有效的致敏保护效应（Medina *et al.*, 2018）。而在赤拟谷盗 *T. castaneum* 抵御 Bt 时，只有当二次感染的株系与致敏株系一致时才能达到显著的抵御效果，然而当使用不同种类的细菌甚至是昆虫生理盐水感染赤拟谷盗时，都能增强其后期抵御枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* 等其他细菌的能力（Roth *et al.*, 2009）。这些结果表明，用不同的病原物进行感染时可以获得不同程度的致敏特异性。

此外，致敏和二次感染的间隔时间也是影响致敏效能的重要因素，即致敏记忆的时效性。根据致敏与二次感染的间隔时间可以将昆虫免疫致敏分为同一虫态的免疫致敏（within life stage priming）、跨生活史的免疫致敏（ontogenic priming）以及跨代免疫致敏（trans-generational priming）（Tate and Rudolf, 2012; Khan *et al.*, 2016）。同一虫态的免疫致敏可以为昆虫提供即时的免疫保护，使昆虫安全度过当下的不良环境，随着危险信号的消除，致敏的保护效应也随之减弱。在大蜡螟 *G. mellonella* 幼虫的致敏研究中，发现随着二次感染与致敏间隔时间的拉长，致敏保护的效能也在逐渐降低，直至消失（Wu *et al.*, 2014）；在黑腹果蝇 *D. melanogaster* 的研究中也发现其对绿脓杆菌 *Pseudomonas aeruginosa* 致敏保护是短时的（Christofi and Apidianakis, 2013）。跨生活史的免疫致敏和跨代免疫致敏是基于昆虫不同的生活史阶段和不同的世代之间可能会受到相同病原的威胁，因此致敏可以提供长效的保护作用。Thomas 和 Rudolf（2010）发现杂拟谷盗 *T. confusum* 在幼虫阶段的病原致敏经历使其在成虫阶段不容易被感染。此外，跨代免疫致敏效应已经在多种昆虫中得到验证，如欧洲熊蜂 *B. terrestris*、印度谷螟 *P. interpunctella*、烟草天蛾 *M. sexta*、赤拟谷盗 *T. castaneum*、粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni* 和黄粉虫 *T. molitor* 等（Eggert *et al.*, 2014; Trauer-Kizilelma and Hilker, 2015）。这些研究表明，免疫致敏的记忆时效性可能依赖于生活史特定的宿主-病原关系，昆虫从幼虫阶段到成虫阶段可能会经历病原转变或对相同病原敏感性不同的情况，而昆虫免疫致敏的效能也会根据特定的宿主-病原关系形成相适应的机制。

除了以上因素外，昆虫的性别和生理状态等也可以影响昆虫免疫致敏的效果，Moreno-García 等（2015）发现埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 在幼虫阶段细菌暴露的经历能显著提高成虫在细菌感染下的存活率，但在不同性别成虫表现出不同水平的免疫保护。当然，并不是所有的昆虫都可以被致敏，致敏也不总是为昆虫提供了生存优势，例如：一种黑褐蚁 *Formica selysi* 被天然病原菌白僵菌 *B. bassiana* 感染后并不能引起显著的致敏保护效应（Reber and Chapuisat, 2012）；用热杀死的溶菌酶微球菌 *Micrococcus lysodeiktikus* 致敏豆娘 *Hetaerina americana* 雄虫，其在二次感染中的生存率相对于无处理的雄虫并没有提高（González-Tokman *et al.*, 2010）。

1.2　昆虫免疫致敏的潜在机制

昆虫免疫系统的组成以及分子机理已经在一些模式昆虫如黑腹果蝇 *D. melanogaster*、黄粉虫 *T. molitor*、烟草天蛾 *M. sexta* 等中得到很好的描述（Lemaitre and Hoffmann, 2007; Park *et al.*, 2010; Cao *et al.*, 2015）。昆虫免疫过程起始于宿主细胞通过模式识别受体（pattern recognition receptor, PRR）精确识别并结合病原体相关分子模式（pathogen associated molecular pattern, PAMP），这种结合刺激免疫信号调控网络，进而激活效应机制。其中最重要的免疫信号通路就是 Toll 和 IMD 的途径，它们已经可以展现出广泛的特异性，如区分不同细菌的革兰氏类型，然而更高程度特异性的分子基础仍不清楚（Lemaitre and Hoffmann, 2007; 吕鸿声, 2008）。在昆虫免疫致敏的研究中，不同的病原菌致敏可以获得不同程度特异性的保护，这可能与宿主不同的免疫响应通路以及独特的宿主-病原互作机制相关。

一般情况下，昆虫的免疫致敏主要有两个可能的诱导模式（Milutinović *et al.*, 2016; Melillo *et al.*, 2018; Pradeu and Du Pasquier, 2018）（图 1）。第一种模式，致敏的抗原诱导了持久的防御，从而导致宿主体内相关免疫效应分子数量的增加，并在二次感染发生时发挥增效作用（图 1: A; 图 2: A），如血淋巴抗菌活性的持续诱导，很多研究表明病原感染可以诱导抗菌肽（antimicrobial peptide, AMP）长时表达，采用粘质沙雷氏菌 *S. marcescens* 致敏的油葫芦 *Teleogryllus oceanicus*，其抗菌活性的增强与酚氧化

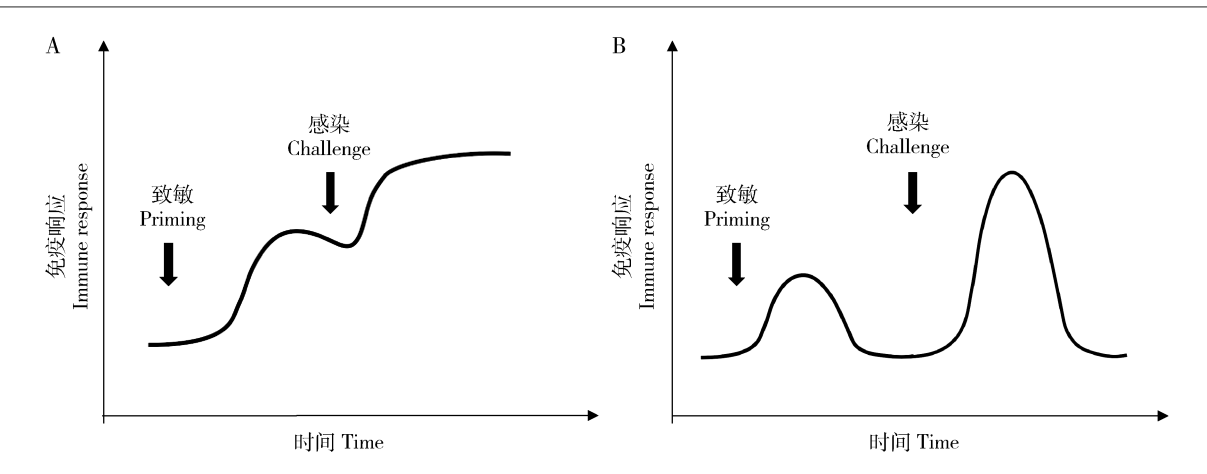


图 1 免疫致敏可能的模式(改自Milutinović *et al.*, 2016; Melillo *et al.*, 2018; Pradeu and Du Pasquier, 2018)

Fig. 1 Hypothetical scenarios for immune priming (adapted from Milutinović *et al.*, 2016; Melillo *et al.*, 2018; Pradeu and Du Pasquier, 2018)

A: 致敏诱导了持久的免疫响应,二次感染可以在致敏响应的基础上进行叠加产生更强的响应 Priming could induce a long-term immune response, which can further increase upon subsequent challenge. B: 致敏之后,最初的免疫响应会衰减至基础水平,当二次感染的时候又能展示出更强更快的反应,这种途径表明免疫响应以记忆形式存在,前一次应对病原菌的信息被存储起来,当再次需要的时候能快速获得 After priming, the initial immune response decays to the basal level, with the secondary exposure eliciting a stronger and faster reaction. This scenario implies the existence of a form of memory, where the previous response to the pathogen information is stored and rapidly accessed upon demand.

酶、溶菌酶活性升高及抗菌肽的持续诱导表达密切相关(McNamara *et al.*, 2014);黑腹果蝇 *D. melanogaster* 的某些抗菌肽在病原感染后长达 3 周的时间内一直处于激活状态(Uttenweiler-Joseph *et al.*, 1998);Haine 等(2008)发现黄粉虫 *T. molitor* 感染病原菌后,血淋巴可以诱导产生抗菌活性并快速清除掉 99.5% 的细菌,同时可以对剩下 0.5% 的细菌产生抗性,而这些细菌能够诱导产生持续 28 d 的抗菌活性,以抵御外源细菌的感染。除了抗菌肽,活性氧的诱导表达也可增加血淋巴抗菌活性(Ferro *et al.*, 2017),从而介导免疫致敏,如采用粘质沙雷氏菌 *S. marcescens* 对车前草灯蛾 *Parasemia plantaginis* 的诱导致敏,可显著增加活性氧含量(Mikonranta *et al.*, 2014)。然而,鉴于大多数血淋巴抗菌活性的持续诱导展示出有限的效应特异性,目前还不清楚这些抗菌活性能够提供多大程度的特异保护。第二种模式,初始的致敏响应随时间的推移而衰减,但二次抗原暴露时产生更强更快的防御力,有助于快速清除感染物(Torre *et al.*, 2017)(图 1: B)。这一种致敏机制在本质上不同于第一种模式,第一种模式依赖于持久诱导的防御,而第二种模式表明免疫致敏存在记忆现象,即首次抵御感染物的信息被储存了起来,并在需要的时候表达出来(Kurtz, 2005; Schmid-Hempel, 2011)。此外,两种致敏模式在特异性程度上会有所不同,第一种模式可能被温度等更广谱的压力所驱动,第二种模式则可能是针对特定的病原体。实际上,致敏可以基于两种模式的结合,如在注射感染过程中除了有病原的侵染外还有机械损伤刺激,该过程可能引起两种模式同时发生(Schmid-Hempel, 2011)。目前,针对第二种模式的致敏机制仍不清楚,但是一些免疫元件可能在介导特异性免疫致敏中发挥着潜在作用(图 2)。

首先,昆虫可能存在潜在的分子参与对病原的特异识别,从而诱导特异性的致敏保护(图 2: C)。事实上,昆虫已具有相当数量的 PRR 能识别各种各样具有 PAMP 的病原体,PAMP 代表了病原体的分子信号,例如,脂多糖(LPS)、脂磷壁酸(lipoteichoic acid, LTA)、甘露聚糖分别代表了革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌与真菌的信号,PRR 识别了 PAMP 就会获得有关入侵病原体的类型、性质等信号(吕鸿声, 2008)。而针对更高程度的特异识别,昆虫可能存在一组进化获得的 PRR,这些 PRR 能够对施加高选择性压力的某些类型的病原体产生特异性反应(Milutinović *et al.*, 2016)。这类识别可能需要识别病原本身独特的 PAMP,例如,给赤拟谷盗 *T. castaneum* 饲喂过滤掉野生 Bt 菌体的培养液可以诱导宿主特异性致敏,增强对 Bt 的抗性,而饲喂 Bt Cry^- 菌株的培养液则不能引起相同的致敏保护,所以 Cry 毒性蛋白可能作为 Bt 独特的 PAMP,在介导赤拟谷盗特异性免疫致敏中发挥关键作用(Milutinovic *et al.*, 2014)。相反,在大蜡螟 *G.*

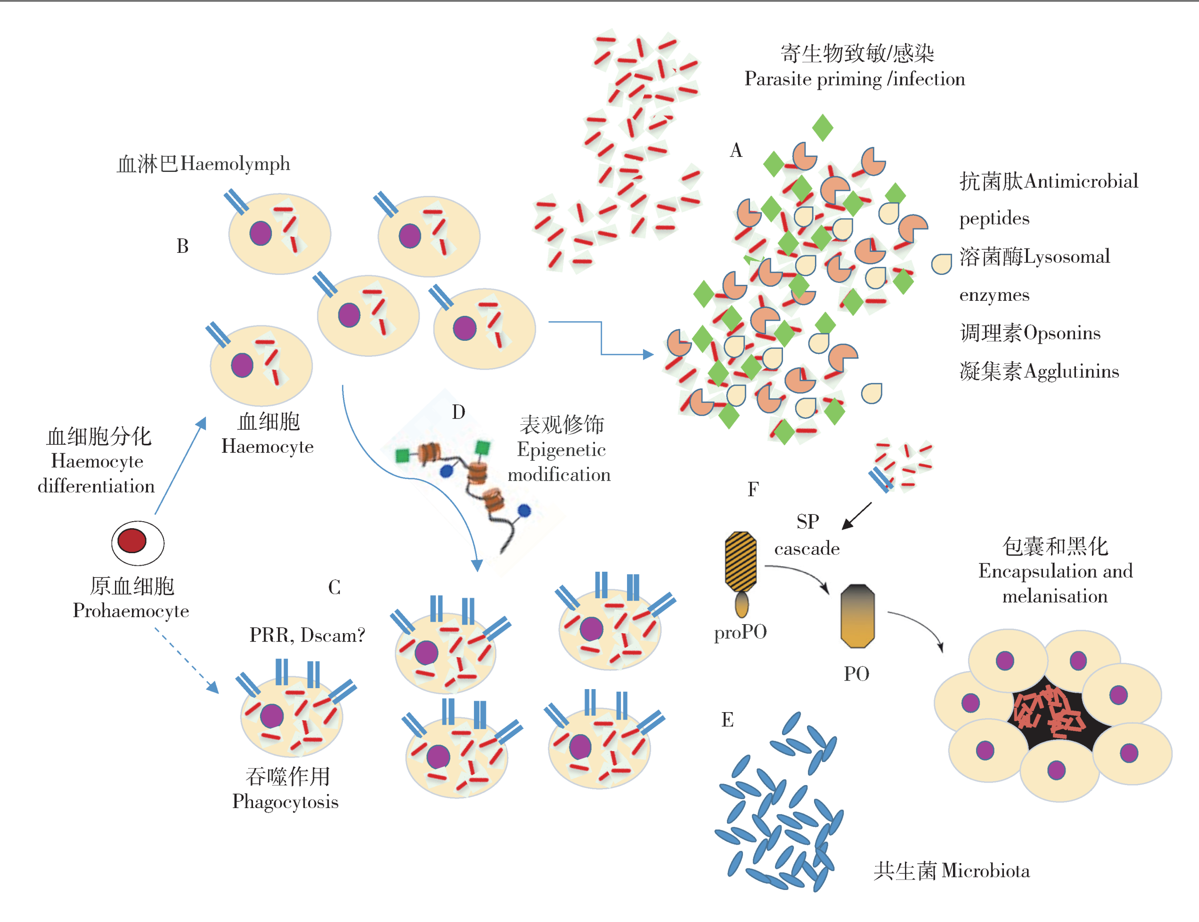


图 2　昆虫免疫致敏潜在机制

Fig. 2　Potential mechanisms of insect immune priming

A：致敏诱导抗菌肽、溶菌酶等免疫效应分子长效表达，从而提供长效免疫保护 Priming induces long-acting expression of immune effector molecules such as antimicrobial peptides and lysozyme，thereby providing long-term immune protection（Uttenweiler-Joseph *et al*.，1998；Haine *et al*.，2008；McNamara *et al*.，2014；Ferro *et al*.，2017）．B：致敏促进血细胞增殖和分化，增强细胞免疫作用 Priming promotes haemocyte proliferation and differentiation，and enhances cellular immunity（Rodrigues *et al*.，2010；Wu *et al*.，2014；Ramirez *et al*.，2015；Dhinaut *et al*.，2018）．C：致敏促进病原识别受体（pathogen recognition receptor，PRR）在血细胞表面增殖，进而加强对病原的识别和吞噬，而唐氏综合征细胞黏附分子（Down syndrome cell adhesion molecule，Dscam）可能在病原特异识别及清除中发挥作用 Priming promotes the proliferation of pathogen recognition receptor（PRR）on the surface of haemocyte，thereby enhancing the recognition and phagocytosis of pathogens，while Down syndrome cell adhesion molecule（Dscam）may play a role in pathogen-specific recognition and clearance（Watson *et al*.，2005；Dong *et al*.，2006）．D：免疫致敏的记忆性及特异性可能基于表观修饰 The memory and specificity of immune priming may depend on epigenetic modification（Ottaviani，2015；Vilcinskas，2016）．E：肠道微生物等共生菌可能参与免疫致敏调控 Symbiotic bacteria such as gut microbiota may be involved in immune priming regulation（Hernandez-Martinez *et al*.，2010；Rodrigues *et al*.，2010；Futo *et al*.，2015）．F：免疫致敏可能依赖于宿主 PRR 识别感染物后丝氨酸蛋白酶级联（serin protease cascades，SP cascade）和酚氧化酶原（prophenoloxidase，proPO）的过表达，使其在二次感染中展现出更快更强的激活效率，从而介导对感染物进行包囊和黑化 Immune priming could be based on activation and overexpression of serin protease cascades（SP cascade）and prophenoloxidase（proPO）after the host PRR recognize the infectious agent，mediating a faster and stronger activation efficiency in subsequent infection and promoting encapsulation and melanisation of parasites（Cerenius *et al*.，2008；Shi *et al*.，2014；Milutinović *et al*.，2016）．PO：酚氧化酶 Phenoloxidase.

mellonella 的研究中，发光杆菌 *P*. *luminescens* 的毒性蛋白 $PirA_2B_2$ 并不能诱导大蜡螟免疫致敏，而其脂多糖可以，说明脂多糖才是发光杆菌 *P*. *luminescens* 诱导大蜡螟致敏的关键（Wu *et al*.，2015b，2015c）。然而，从宿主昆虫病原的特异识别角度，已鉴定到昆虫存在一类特异性免疫受体唐氏综合征细胞黏附分子（Down syndrome cell adhesion molecule，Dscam），它是一种依赖可变剪接实现多样性的超家族免疫球蛋白，该基因通过可变剪接可以在黑腹果蝇 *D*. *melanogaster* 中产生超过 18 000 种亚型，在冈比亚按蚊 *A*. *gambiae* 中产生 31 920 种亚型（Watson *et al*.，2005）。在昆虫中该基因的不同亚型可能参与病原的特异识别以及特异性致敏保护的诱导（Kurtz and Armitage，2006；Armitage *et al*.，2015），黑腹果蝇中 Dscam 不同的亚型能够不同程度地结合大肠杆菌 *E*. *coli* 且 Dscam 表达下调后会

显著降低吞噬作用效率(Watson *et al*., 2005),而在冈比亚按蚊 *A. gambiae* 中不同的病原感染能够诱导 Dscam 不同剪接形式 mRNA 的表达,且 Dscam 基因的沉默会降低蚊子对病原菌和疟原虫的抵抗力(Dong *et al*., 2006)。因此,Dscam 亚型多样性可能作为候选的受体、调理素或效应因子作用于不同的病原物并且具有高度的特异性。然而,虽然 Dscam 在昆虫免疫中起着一定的作用,但它对致敏特异性记忆的特殊作用仍然需要进一步证明(Armitage *et al*., 2014; Peuss *et al*., 2016; Nazario-Toole *et al*., 2018)。

其次,一些证据指出吞噬作用在致敏特异性方面发挥重要作用(图 2: B, C)。Pham 等(2007)报道了黑腹果蝇 *D. melanogaster* 对肺炎双球菌 *S. pneumoniae* 的特异性免疫致敏是由吞噬作用介导的,当用微珠封闭血细胞的吞噬作用时,对肺炎双球菌的特异性致敏保护将消失。此外在家蚕 *B. mori* 以及鼠妇 *Porcellio scaber* 的免疫致敏研究中也发现了血细胞的吞噬作用具有特异性,用哪种病原菌进行致敏就会诱导血细胞对该病原菌的吞噬作用特异性增强(Roth and Kurtz, 2009; Wu *et al*., 2015a)。此外,在大蜡螟 *G. mellonella* 和黄粉虫 *T. molitor* 中,致敏使得吞噬细胞的数量显著上升(Wu *et al*., 2014; Dhinaut *et al*., 2018)。然而,有关昆虫免疫致敏与吞噬细胞之间的联系研究甚少,是否在吞噬细胞表面存在各种各样的受体,免疫致敏激活其中部分受体,血细胞会选择性地扩增病原相对应的受体细胞,从而更高效清除侵入的病原体等并不清晰。

还有研究表明宿主肠道微生物在免疫致敏过程中也发挥着重要作用(图 2: E)。在冈比亚按蚊 *A. gambiae* 中,疟原虫感染能够介导肠道微生物从中肠侵入血淋巴,引起原血细胞加速分化,粒血细胞的数量终身处于增加的状态,从而使宿主处于致敏的状态,而这个过程是一个由脂氧素/载脂蛋白的复合物作为血细胞分化因子所介导的(Rodrigues *et al*., 2010; Ramirez *et al*., 2015)。Futo 等(2015)清除赤拟谷盗 *T. castaneum* 幼虫的肠道微生物后,发现喂食 *B. thuringiensis* 的幼虫不能引起致敏响应且不能给感染病原状态下的昆虫提供生存优势,这说明苏云金芽孢杆菌 *B. thuringiensis* 可能在肠道中与肠道微生物发生了相互作用,进而引发免疫致敏。在甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 中也表明,增加肠道微生物的载量可以诱导明显的免疫致敏效应,并且增强了对 Bt 的抗性(Hernandez-Martinez *et al*., 2010)。值得注意的是,针对淡色按蚊 *Anopheles albimanus* 的研究表明,无论肠道菌群存在与否,免疫致敏仍然可以获得(Contreras-Garduño *et al*., 2015)。

另外,表观遗传也可能参与了昆虫免疫致敏的调控(图 2: D)(Ottaviani, 2015; Vilcinskas, 2016)。昆虫等无脊椎动物缺乏免疫细胞重组过程,极有可能通过 DNA 或 RNA 甲基化等表观修饰来调节基因表达,从而实现免疫记忆。Castro-Vargas 等(2017)采用反相液相色谱法(reversed-phase liquid chromatography procedure)发现溶壁微球菌 *M. lysodeikticus* 致敏黄粉虫 *T. molitor* 成虫以及金龟子绿僵菌 *M. anisopliae* 致敏黄粉虫幼虫引起 RNA 甲基化(5mC)比例显著降低,说明 RNA 甲基化可能参与黄粉虫免疫致敏的调控,但哪些基因受到 RNA 甲基化的转录后调控,从而改变了 RNA 的丰度和结构等仍不清楚。最近 RNA-seq 实验提供了一些详细的理解(Riddell *et al*., 2014; Greenwood *et al*., 2016),在黄粉虫 *T. molitor* 中的转录测序表明,大肠杆菌 *E. coli* 与金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 混合致敏引起了抗菌肽、Toll 通路、铁螯合反应相关基因的长效诱导表达,可能参与致敏保护调控(Johnston *et al*., 2013)。而在赤拟谷盗 *T. castaneum* 中,喂食致病 Bt 致敏引起的转录响应与喂食非致病 Bt(不能产生致敏响应)刺激引起的转录响应有着本质不同,例如,大量的基因在致敏时被诱导表达,而这些基因在免疫刺激时不被诱导,其中许多基因与肠道免疫有关。然而,某些基因甚至在刺激和致敏中表现出相反的表达模式,大约 18% 的基因在刺激时表达量下调,而在致敏时表达量显著上调。未致敏昆虫的免疫刺激是通过激活 IMD 和 Toll 级联途径引起了更广泛的防御机制,而前期的致敏似乎已经有定向免疫反应,表达了不同的效应物(Greenwood *et al*., 2017)。

除了以上机制外,一些非特异性的致敏保护还可以通过酚氧化酶级联反应的调节实现(图 2: F)。酚氧化酶(phenoloxidase, PO)可以介导昆虫对病原体的包囊和黑化反应,通常它以未激活状态的酚氧化酶原(prophenoloxidase, proPO)形式存在于血淋巴中,当宿主识别病原菌时可以激活丝氨酸蛋白酶(serine proteinase),促使 proPO 分解成为 PO,进而催化黑色素和细胞毒素产生并加强对病原菌的包囊(Cerenius *et al*., 2008)。在红棕象甲 *Rhyncophorus ferrugineus* 的研究中发现,致敏使得宿主血淋巴 PO 的本体活性水平提高,并且在二次感染时有更快更

强的激活效率(Shi *et al.*, 2014)。这可能与 proPO 的过表达和丝氨酸蛋白酶激活效率的提升相关(Milutinović *et al.*, 2016)。然而，在赤拟谷盗 *T. castaneum* 中，不同的病原菌感染并不能引起不同程度的 PO 响应(Roth *et al.*, 2010)，且机械损伤等非病原刺激也能导致 PO 活性的增加(Peuss *et al.*, 2015)，这说明 PO 的致敏响应不具有特异性。

相比其他外源物，昆虫针对病毒存在着独特的致敏机制。昆虫利用 siRNA 和 piRNA 两种不同的 RNA 干扰通路来应对病毒感染(Ligoxygakis, 2017)。在黑腹果蝇 *D. melanogaster* 中，血细胞在摄取病毒 RNA 后会产生抗病毒 siRNA，当把这些抗病毒 siRNA 接种到未感染病毒的个体时，可以提供被动的抗病毒保护，类似于哺乳动物的抗体接种(Tassetto *et al.*, 2017)。在埃及伊蚊 *A. aegypti* 中基因组测序发现，病毒感染后内源性病毒元件能够整合在宿主基因组内并转录产生抗病毒 piRNA，表明了特异性抗病毒保护效应物的可遗传性(Whitfield *et al.*, 2017)。这两种机制都是针对原发性病毒感染的特异性免疫记忆，可视为获得性免疫的记忆机制。

因此，昆虫存在着复杂且多样化的免疫致敏机理，尽管现在对昆虫免疫致敏的机理有了一定的认识和推测，但仍停留在表象，且很多机制尚未得到充分验证。同时关于免疫致敏的效应分子、信号通路以及各个机制之间的联系有待于进一步深入探讨。

2　昆虫跨代免疫致敏及潜在机制

2.1　昆虫跨代免疫致敏

免疫激活后的亲代昆虫可以通过跨代免疫致敏来增强后代的免疫活性和/或存活能力(Moret, 2006)。例如，在欧洲熊蜂 *B. terrestris* 和黄粉虫 *T. molitor* 中雌虫细菌感染致敏会使得产生的卵抗菌活性增加，使得这些卵在病原存在下有更高的孵化率，幼虫也有更高的存活率(Sadd and Schmid-Hempel, 2006; Moreau and Moret, 2012)；西方蜜蜂 *Apis mellifera* 蜂王注射热杀死的幼虫芽孢杆菌 *P. larvae* 致敏，其产生的后代增加了 3 倍多的分化血细胞数量，并且在相同病原感染下有更高的生存率(Hernandez *et al.*, 2014)；红棕象甲 *R. ferrugineus* 致敏雌虫使得子代幼虫的血淋巴抗菌活性以及酚氧化酶活性增加(Shi *et al.*, 2014)。如上，大部分昆虫的跨代免疫致敏是通过雌虫传递的，因为雌虫对子代的投入相对较大，除了遗传信息外还包括一些营养物质以及免疫分子等传递给了子代，从而增强子代的适合度，但在一些昆虫中报道雄虫也可执行致敏传递，Roth 等(2010)对赤拟谷盗 *T. castaneum* 的研究发现，注射热杀死细菌的雄虫同样可以将致敏保护效应传递给子代，但其与相同刺激的雌虫传递的致敏效应有着本质区别。同样，Zanchi 等(2011)报道注射脂多糖的黄粉虫 *T. molitor*，雌雄成虫都可以将致敏效应传递给子代，但它们提高后代的免疫效应和适合度代价不同，免疫刺激的雌成虫产生的后代免疫防御普遍增强，而免疫刺激的雄成虫只将免疫致敏传递给早期产下的子代。这些结果表明，昆虫雌雄成虫都有为后代提供免疫保护的潜能，但在免疫致敏的跨代传递过程中有着不同的投入，且两者的致敏效应有着本质不同，表明雌雄成虫对子代有着不同的免疫投资策略(Dhinaut *et al.*, 2018)。

通常认为跨代免疫致敏的效应机制是亲代将免疫效应分子传递给子代或/和诱导子代免疫基因的表达，在黄粉虫 *T. molitor* 中证实跨代致敏免疫的增强兼具这两种机制，但是以一种依赖于病原体的方式展现(Dhinaut *et al.*, 2018)。因此，不同病原物致敏的亲代可能诱导子代不同的免疫防御。Freitak 等(2014)用不同的细菌组合来感染大蜡螟 *G. mellonella* 雌成虫，其产生的卵诱导表达了不同的免疫基因。同样，Knorr 等(2015)用 3 种细菌分别感染赤拟谷盗 *T. castaneum* 雌成虫，不同程度地诱导表达了子代免疫相关基因和压力相关基因。这说明昆虫应对不同病原物有着不同的免疫保护机制，亲代昆虫会将相适应的致敏保护机制遗传给子代。因此，跨代免疫致敏可能也存在特异性。光肩星天牛 *Anoplophora glabripennis* 亲代对粘质沙雷氏菌 *S. marcescens* 的暴露可以为后代提供了针对真菌病原体的非特异性保护，但是跨代免疫致敏对绿僵菌属 *Metarhizium* 的作用只发生在后代接触到与致敏亲代同样真菌的时候(Fisher and Hajek, 2015)。奇怪的是，在黄粉虫 *T. molitor* 中发现无论用什么类型的病原菌(革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、真菌)致敏雌虫，其产生的卵只被诱导产生对革兰氏阳性菌的抗性，而这种抗性的产生与卵中一种专门针对革兰氏阳性菌的抗菌肽 tenecin 1 持续诱导表达相关，这说明不同类型的病原可能激活了相同的跨代免疫致敏调控因子，还有一种可能是革兰氏阳性菌对黄粉虫卵的生存构成了严重威胁，亲代更倾向于将应对革兰氏阳性菌的免疫保护机制遗传给卵(Dubuffet *et al.*, 2015)。另外，利用转录组测序发现致敏欧洲

熊蜂 *B. terrestris* 蜂王产生的工蜂即使在没有病原暴露的情况下也能组成型表达一些病原诱导表达的基因,包括抗菌肽、β-葡聚糖受体、Toll 通路相关基因等,从而为子代提供持久保护(Barribeau *et al*., 2016)。然而,在烟草天蛾 *M. sexta* 中发现,卵中的跨代免疫致敏效应只有在"需要"的时候才会显现出来,即亲代致敏并不影响未寄生卵中免疫相关基因的表达,然而当卵被寄生以后,亲代致敏产生的卵的免疫相关基因表达量显著高于无致敏亲代产生的卵(Trauer-Kizilelma and Hilker, 2015)。这说明跨代免疫致敏的保护机制并不总是在子代中表现出来,而是以记忆的形式储存起来,在寄主被病原感染或寄生时发挥最大功效。

此外,还有研究表明跨代免疫致敏效应在子代不同发育阶段有着不同的响应,Trauer 和 Hilker (2013)研究表明该效应可以在烟草天蛾 *M. sexta* 子代不同发育阶段产生不同的响应,这可能是由于大部分昆虫的生活史都会经历变态发育,不同发育阶段的昆虫所处的环境、面临的病原菌可能都不相同,免疫致敏的跨代传递效应可以对子代不同发育阶段的免疫能力进行微调,使其更好地应对不良环境。

2.2 昆虫免疫致敏跨代传递的潜在机制

尽管免疫致敏的跨代传递效应已经在多种昆虫中报道,但致敏效应从亲代传递给子代的潜在机理并不清晰,通常认为免疫致敏的跨代传递可能存在表观修饰、卵黄原蛋白的传递和共生菌的传递 3 个方面的机制。

首先,免疫致敏作为昆虫后天获得的性状可以遗传给后代,表观遗传似乎可以提供一些解释,尤其是对雄虫能够传递致敏效应的现象。Eggert 等(2014)利用双杂交实验发现赤拟谷盗 *T. castaneum* 子代中只有获得致敏雄虫遗传信息的后代才能提升在病原感染下的存活率,这表明对子代的致敏保护机制是通过精子传递,表观修饰发挥着潜在作用。然而,在赤拟谷盗 *T. castaneum* 中研究发现雌虫喂食细菌致敏能诱导子代免疫相关基因的表达,但是卵基因组 DNA 的甲基化水平却并未受到影响(Knorr *et al*., 2015),对黄粉虫 *T. molitor* 的研究也发现了类似结果(Castro-Vargas *et al*., 2017)。尽管如此,仍不能否定表观修饰在免疫致敏跨代传递中的作用。一方面,这些研究只是测定了整体基因组 DNA 甲基化水平的变化,并未明确致敏相关基因的甲基化变化,而调控致敏相关的基因可能只占基因组 DNA 的很小一部分,不容易被检测到,因此更详细的数据需要全基因组甲基化测序来证实。另一方面,除了 DNA 甲基化以外,表观修饰还包括染色体异构、组蛋白修饰以及小分子 RNA 调控等(Ottaviani, 2015; Seeley *et al*., 2018),在大蜡螟 *G. mellonella* 中已证实病原感染可以促进组蛋白脱乙酰基酶类表达量增加(Mukherjee *et al*., 2012, 2015);同样在大蜡螟中,转录测序鉴定到 miRNAs 调控金龟子绿僵菌 *M. anisopliae* 和嗜虫沙雷菌 *S. entomophila* 感染,嗜虫沙雷菌 *S. entomophila* 诱导卵中 api-miR-263a 大量表达,而 dps-miR-200b 在金龟子绿僵菌 *M. anisopliae* 感染时被沉默,且其靶标基因上调表达(Mukherjee and Vilcinskas, 2014)。这些机制是否参与调控免疫致敏的跨代传递仍需要进一步证实。

其次,由于大多数免疫致敏的跨代传递效应是从雌虫传递给子代,雌虫除了遗传信息还将一些营养物质如卵黄原蛋白也传递给子代,这些物质可能参与致敏效应的传递。Salmela 等(2015)证实了卵黄原蛋白从合成到转运至卵巢的过程中可以与细菌或病原相关分子结合,并最终一起整合到卵组织中遗传给下一代,从而实现致敏效应的传递。此外,还有研究发现赤拟谷盗 *T. castaneum* 和大蜡螟 *G. mellonella* 喂食病原菌后,通过荧光标记来定位虫体内的病原菌,发现细菌或细菌片段可以突破肠道屏障进入血淋巴,随后在卵巢中积累,并最终沉积到卵中,所以也认为雌虫直接将细菌和细菌片段转移到发育中的卵来介导跨代免疫致敏(Freitak *et al*., 2014; Knorr *et al*., 2015)。但由此也可以发现细菌在昆虫体内的走向与卵黄原蛋白转运的路径大体一致,卵黄原蛋白很可能参与了细菌在昆虫体内的转运。而且,这种机制似乎也可以解释免疫致敏跨代传递的特异性,昆虫将细菌或细菌成分直接从致敏雌虫传递到卵,因此,跨代免疫致敏响应直接由病原菌所决定。

除了以上因素外,昆虫共生菌也有可能参与免疫致敏的跨代传递。共生菌可以从亲代传递给子代(Wang *et al*., 2017),且已有研究表明昆虫共生菌在介导免疫致敏中发挥重要作用(Futo *et al*., 2015),转录测序也表明致敏过程中与肠道微生物互作的基因受到诱导表达(Greenwood *et al*., 2017)。另外,在赤拟谷盗 *T. castaneum* 的研究中发现,宿主的粪便(富含肠道微生物)对免疫致敏跨代传递效应有着显著的增效作用,进一步说明了共生菌在免疫致敏跨代传递中的潜在作用(Kennedy *et al*., 2017)。

3　免疫致敏的适应性代价

随着病原物的持续存在以及不断变化，昆虫的致敏响应也应当是不断进化的，即致敏的表型可塑（Little and Kraaijeveld, 2004; Schmid-Hempel, 2011; Khan *et al*., 2017; Gourbal *et al*., 2018）。然而，致敏表型可塑本身可能是昂贵的过程，这取决于病原物再暴露的可能性和动态变化，来决定是否提高或保持致敏响应。因而存在特定的消耗和收益之间的权衡；一个太窄（即高度特异性）的免疫反应可能会不能应对遗传多样性或迅速变化的寄生物，而过于广泛（即交叉反应）在应对一个特定类型的寄生物时可能效率很低。因此，可以发现致敏能力和它的特异性被宿主的进化历史和和生理成本所限制，并优化出对自然寄生物的防御策略（Milutinović *et al*., 2016）。

由于免疫上的投资是高代价的，因而免疫特性的诱导表达优于组成型表达（Milutinović *et al*., 2016）。但是，在昆虫免疫致敏过程中使得一些免疫效应因子组成型表达，包括分泌抗菌肽、血细胞分化以及相关效应基因的表达等，这些预示着免疫致敏的消耗，势必引起与其他生物学过程的权衡。黄粉虫 *T. molitor* 免疫致敏的转录测序分析表明，致敏使得一些免疫相关基因受到长效诱导表达，但许多与新陈代谢和营养储存相关的基因表达被抑制，表明了免疫致敏的适应性代价（Johnston *et al*., 2013）。昆虫免疫致敏最主要的适应性代价就是对发育和生殖的影响（Luu and Tate, 2017）。首先，免疫致敏对昆虫发育的影响比较复杂。在黄粉虫 *T. molitor* 中，亲代病原注射致敏能够延长子代幼虫的发育时期（Zanchi *et al*., 2011）。相反，赤拟谷盗 *T. castaneum* 不论是同代还是跨代的病原注射致敏，都能加速幼虫的发育（Roth and Kurtz, 2008; Tate and Graham, 2015）；同样，烟草天蛾 *M. sexta* 跨代致敏使得子代低龄幼虫发育更快且体重更重（Trauer and Hilker, 2013）。有趣的是，赤拟谷盗 *T. castaneum* 口服病原致敏却能延长幼虫的发育时间，这进一步表明了两种感染途径显著不同的生理反应（Milutinović *et al*., 2014）。同时，还有研究表明跨代免疫致敏对子代发育历期的影响取决于亲代致敏所用的病原菌，例如，在黄粉虫 *T. molitor* 中，相比于革兰氏阳性菌致敏，当亲代雌虫用革兰氏阴性菌致敏时，能够显著延长子代幼虫的发育历期（Dhinaut *et al*., 2017）。

其次，免疫致敏会降低宿主昆虫的生殖力。致敏使得烟草天蛾 *M. sexta* 雌虫产较少的卵（Trauer-Kizilelma and Hilker, 2015）；而淡色按蚊 *A. albimanus* 雌虫致敏虽然不会对产卵量造成影响，但卵的孵化率显著降低（Contreras-Garduño *et al*., 2014）。病原致敏埋葬虫 *Nicrophorus vespilloides* 雌虫能提高其消化道分泌物的抗菌活性，但其终生的生殖成功率显著下降（Cotter *et al*., 2010）。同样地，赤拟谷盗 *T. castaneum* 亲代雄虫的免疫致敏也显著降低子代的繁殖率（Roth *et al*., 2010）。此外，在免疫致敏跨代传递中，致敏效应并非 1∶1 从亲代传递给子代（Freitak *et al*., 2009），并且还涉及到资源分配上的权衡。例如，Zanchi 等（2012）研究发现，致敏的黄粉虫 *T. molitor* 雌虫产下的卵中，只有一定的比例能获得雌虫遗传的致敏保护，而这个比例与雌虫产卵的时间和产卵的数量有很强的相关性。

除了生殖和发育，昆虫免疫致敏还会影响到一些其他的生物学过程。例如，在黄粉虫 *T. molitor* 中，免疫致敏会负向影响雄虫的性引诱行为和剩余寿命，并且致敏保护效应不会在大龄雄虫二次病原感染中显现出来，体现出致敏响应与老龄化及性引诱行为之间的权衡（Daukšte *et al*., 2012）。此外，在欧洲熊蜂 *B. terrestris* 中，致敏雌虫产下的后代有更强的抗菌活性，子代也没有表现出与生存相关的能量消耗，但它们对非亲代致敏的细菌表现出敏感性增强（Sadd and Schmid-Hempel, 2009）。

昆虫免疫致敏会影响到其他生物学过程，同样生殖等其他生物学过程也会影响致敏响应的效能。事实上，早有研究表明生殖行为会使昆虫易于被病原感染或寄生（Lawniczak *et al*., 2007）。Nava-Sánchez 等（2015）测试了交配行为对家蟋 *Acheta domesticus* 血细胞吞噬作用介导的免疫致敏的影响，研究表明，相比交配的个体，未交配的个体表现出更高的吞噬效率，进一步说明生殖行为对免疫致敏效率的影响。

显然，昆虫免疫致敏与其他生活史对策存在资源分配上的权衡，但是免疫致敏与其他生物学过程相互联系的分子基础仍不明确，而这个问题的解决不仅有助于从分子水平理解免疫致敏的消耗与收益，更有助于解释昆虫在特定条件下对免疫致敏的最佳投资选择。

4 免疫致敏的进化

免疫致敏的发现使得人们对无脊椎动物免疫系统有了进一步的认识,但理解则刚刚开始。昆虫的免疫致敏类似于脊椎动物的获得性免疫,一定程度上都可以实现免疫的特异性、记忆性以及跨代传递等,但二者在作用机制上仍然存在着本质不同。获得性免疫是通过体细胞遗传重组以产生带有不同抗原结合位点的免疫球蛋白,从而实现特异性免疫记忆(Contreras-Garduño *et al*., 2016),而免疫致敏则是在天然免疫系统的基础上实现的免疫的记忆,其作用机制复杂多样,可能存在于昆虫天然免疫的各个过程中,但具体的分子机制仍不清晰。然而,从某种程度上来讲,免疫致敏更像是获得性免疫系统产生的一个过渡类型,特别是免疫致敏的某些机制作用方式与脊椎动物获得性免疫同源。例如,有研究发现,昆虫 Dscam 的选择性剪接是产生特异、持久免疫响应的潜在机制,Dscam 可变剪接产生的不同亚型对应不同的病原菌,该过程类似于脊椎动物特异性免疫球蛋白产生的过程,即抗原受体基因在 DNA 水平进行重排实现体细胞重组(Kurtz and Armitage, 2006)。此外,采用类似于脊椎动物免疫接种的方式,将致敏蚊子的无血细胞血清转移至蔗糖饲喂的蚊子中,也可使受体蚊子获得致敏的状态,其原因是无血细胞血清中存在调控免疫致敏的血细胞分化因子(Rodrigues *et al*., 2010; Ramirez *et al*., 2015)。事实上,早在 1927 年 Zernoff 就首次展示:从免疫过的大蜡螟 *G. mellonella* 幼虫取血淋巴并注入未免疫的幼虫血体腔,几乎立即能赋予未免疫幼虫以免疫力,被动免疫可以持续 5 d,而注射取自对照组未免疫幼虫的血淋巴不能赋予被注射幼虫以免疫力(Zernoff, 1927)。因此,昆虫血腔中可能存在未知"抗体"调控着免疫致敏效应。在一些昆虫的体液免疫中已经鉴定到了类免疫球蛋白(hemolin)的存在(Sun *et al*., 1990),该血淋巴蛋白能够被细菌感染或者注射脂多糖和肽聚糖强烈诱导,血淋巴中的 hemolin 能够识别并调理外来感染物,并与吞噬细胞接触促进内吞(Ladendorff and Kanost, 1991)。重要的是,hemolin 与昆虫、脊椎动物细胞的粘连分子有很高的同源性,而 Ohno(1990)推测脊椎动物获得性免疫系统的祖先是器官发生的粘连分子系统,有可能 hemolin 与细胞粘连分字具有密切的同源性也是"非己"识别分子的一种原始形态。

值得注意的是,近期发现脊椎动物的天然免疫也可以达到致敏的状态,称为"训练免疫(trained immunity)"(Netea *et al*., 2011),这使得获得性免疫和天然免疫的界限变得模糊(Cooper, 2016)。天然免疫细胞如天然杀伤细胞、巨噬细胞可以表现出适应性免疫特征,病原初次感染使得这些细胞数量上升,而包括表观遗传组蛋白修饰和细胞表面识别受体的调节参与了天然免疫记忆的调控(Netea *et al*., 2011; Geary and Sun, 2017; Beaulieu, 2018)。这些特征类似于无脊椎动物中细胞免疫调控的免疫致敏,但是否有相似的调控机制仍需要进一步探索。在黑腹果蝇 *D. melanogaster* 中已经了解到一些巨噬细胞参与免疫记忆调节的机制,通常巨噬细胞对组织损伤和细菌感染并不敏感,但死细胞或凋亡细胞的吞噬可以致敏巨噬细胞快速应对未来的炎症响应,这是由于细胞吞噬促使胞内钙释放,进而激活 JNK 信号,上调损害识别受体 Draper 的表达,从而实现免疫记忆(Weavers *et al*., 2016)。但是已知果蝇吞噬作用介导了特异性免疫致敏(Pham *et al*., 2007),该机制在多大程度上调控免疫致敏的特异性仍不清楚。

5 小结与展望

尽管先前的观点认为昆虫的免疫响应缺乏特异性,但越来越多的研究表明昆虫免疫致敏现象的存在。相比脊椎动物的获得性免疫,昆虫免疫致敏更容易受到多种因素如致敏方式、致敏原、宿主生理状态的影响,特别是致敏的特异性和记忆性,只有针对特定病原菌和致敏条件才能实现更高程度的特异性和记忆性。同时,这也取决于昆虫复杂多样的致敏机制,其中最重要的机制就是血细胞的分化和吞噬,这些细胞,无论是直接的还是与体液因子协同作用的,都有助于提高清除感染病原体的能力,从而提高存活率。而表观遗传修饰可能是更深层的分子机制,这也支持了免疫致敏跨代传递的可能。

因此,尽管昆虫免疫致敏研究取得了一定的进展,但我们对致敏的潜能和发生过程仍没有完全了解。目前我们对免疫致敏研究主要集中于模式昆虫,其他昆虫如农业害虫的致敏能力仍有待挖掘,特别是不同的昆虫致敏能展现出多大程度的特异性和记忆性,以及免疫致敏和跨代传递的分子调控机制等。此外,相关研究以及数学模型表明免疫致敏可以被诸多因素影响,如特定的宿主-病原关系、感染

方式、龄期、性别、病原的毒力、敏感个体数目、种群大小等（Tate and Rudolf, 2012；Tidbury *et al.*, 2012），但大都是在特定实验条件下研究单个因素的影响，在自然条件下，昆虫面临着复杂的病原和自然环境，这些综合因素对昆虫种群免疫致敏的影响却鲜有说明，而这些研究不仅有助于更好地理解昆虫免疫致敏的发生过程，在指导生产实践如害虫防治中也具有深远意义（Lin *et al.*, 2013；Valdez *et al.*, 2014）。特别是生物防治在控制害虫中的不断应用，免疫致敏的研究可以帮助制定更好的生物防治策略，如使用多种天敌或病原进行防治、避免使用低毒病原进行防治等以避免目标害虫致敏和抗性增强，抑或通过免疫致敏的激活来改变害虫的适应性。目前已有研究利用数学模型来预测免疫致敏对昆虫疾病传播的影响（Tate and Rudolf, 2012；Luu and Tate, 2017；Tate, 2017）。因此，昆虫免疫的致敏研究仍处于初期阶段，还有很多问题亟待解决，而这些问题的解决能更好地帮助我们理解免疫机制的进化和分化，并根据宿主的防御策略来指导害虫防治。

参考文献（References）

Armitage SA, Peuss R, Kurtz J, 2015. Dscam and pancrustacean immune memory – a review of the evidence. *Dev. Comp. Immunol.*, 48(2): 315–323.

Armitage SA, Sun W, You X, Kurtz J, Schmucker D, Chen W, 2014. Quantitative profiling of *Drosophila melanogaster* Dscam1 isoforms reveals no changes in splicing after bacterial exposure. *PLoS ONE*, 9(10): e108660.

Barribeau SM, Schmid-Hempel P, Sadd BM, 2016. Royal decree: gene expression in trans-generationally immune primed bumblebee workers mimics a primary immune response. *PLoS ONE*, 11(7): e159635.

Beaulieu AM, 2018. Memory responses by natural killer cells. *J. Leukoc. Biol.*, 104(6): 1087–1096.

Behrens S, Peuss R, Milutinović B, Eggert H, Esser D, Rosenstiel P, Schulenburg H, Bornberg-Bauer E, Kurtz J, 2014. Infection routes matter in population-specific responses of the red flour beetle to the entomopathogen *Bacillus thuringiensis*. *BMC Genomics*, 15(1): 445.

Brehélin M, Roch P, 2008. Specificity, learning and memory in the innate immune response. *Invertebr. Surv. J.*, 5(2): 103–109.

Browne N, Surlis C, Kavanagh K, 2014. Thermal and physical stresses induce a short-term immune priming effect in *Galleria mellonella* larvae. *J. Insect Physiol.*, 63(2): 21–26.

Buchon N, Silverman N, Cherry S, 2014. Immunity in *Drosophila melanogaster* – from microbial recognition to whole-organism physiology. *Nat. Rev. Immunol.*, 14(12): 796–810.

Cao X, He Y, Hu Y, Wang Y, Chen YR, Bryant B, Clem RJ, Schwartz LM, Blissard G, Jiang H, 2015. The immune signaling pathways of *Manduca sexta*. *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 62: 64–74.

Castro-Vargas C, Linares-Lopez C, Lopez-Torres A, Wrobel K, Torres-Guzman JC, Hernandez GA, Wrobel K, Lanz-Mendoza H, Contreras-Garduno J, 2017. Methylation on RNA: a potential mechanism related to immune priming within but not across generations. *Front. Microbiol.*, 8: 473.

Cerenius L, Lee BL, Soderhall K, 2008. The proPO-system: pros and cons for its role in invertebrate immunity. *Trends Immunol.*, 29(6): 263–271.

Christofi T, Apidianakis Y, 2013. *Drosophila* immune priming against *Pseudomonas aeruginosa* is short-lasting and depends on cellular and humoral immunity. *F1000Research*, 2: 76.

Contreras-Garduño J, Lanz Mendoza H, Franco B, Nava A, Pedraza Reyes M, Canales Lazcano J, 2016. Insect immune priming: ecology and experimental evidences. *Ecol. Entomol.*, 41(4): 351–366.

Contreras-Garduño J, Rodríguez MC, Hernández-Martínez S, Martínez-Barnetche J, Alvarado-Delgado A, Izquierdo J, Herrera-Ortiz A, Moreno-García M, Velazquez-Meza ME, Valverde V, Argotte-Ramos R, Rodríguez MH, Lanz-Mendoza H, 2015. *Plasmodium berghei* induced priming in *Anopheles albimanus* independently of bacterial co-infection. *Dev. Comp. Immunol.*, 52(2): 172–181.

Contreras-Garduño J, Rodríguez MC, Rodríguez MH, Alvarado-Delgado A, Lanz-Mendoza H, 2014. Cost of immune priming within generations: trade-off between infection and reproduction. *Microbes Infect.*, 16(3): 261–267.

Cooper D, Eleftherianos I, 2017. Memory and specificity in the insect immune system: current perspectives and future challenges. *Front. Immunol.*, 8: 539.

Cooper EL, 2016. Commentary: blurring borders: innate immunity with adaptive features. *Front. Microbiol.*, 7: 358.

Cotter SC, Topham E, Price AJ, Kilner RM, 2010. Fitness costs associated with mounting a social immune response. *Ecol. Lett.*, 13(9): 1114–1123.

Daukšte J, Kivleniece I, Krama T, Rantala MJ, Krams I, 2012. Senescence in immune priming and attractiveness in a beetle. *J. Evol. Biol.*, 25(7): 1298–1304.

Dempsey PW, Vaidya SA, Cheng G, 2003. The art of war: innate and adaptive immune responses. *Cell. Mol. Life. Sci.*, 60(12): 2604–2621.

Dhinaut J, Chogne M, Moret Y, 2017. Immune priming specificity within and across generations reveals the range of pathogens affecting evolution of immunity in an insect. *J. Anim. Ecol.*, 87(2): 448–463.

Dhinaut J, Chogne M, Moret Y, 2018. Trans-generational immune priming in the mealworm beetle protects eggs through pathogen-dependent mechanisms imposing no immediate fitness cost for the offspring. *Dev. Comp. Immunol.*, 79: 105–112.

Dong Y, Taylor HE, Dimopoulos G, 2006. AgDscam, a hypervariable immunoglobulin domain-containing receptor of the *Anopheles gambiae* innate immune system. *PLoS Biol.*, 4(7): e229.

Dubuffet A, Zanchi C, Boutet G, Moreau J, Teixeira M, Moret Y, 2015. Trans-generational immune priming protects the eggs only against gram-positive bacteria in the mealworm beetle. *PLoS Pathog.*, 11(10): e1005178.

Eggert H, Kurtz J, Diddens-de Buhr MF, 2014. Different effects of paternal trans-generational immune priming on survival and immunity in step and genetic offspring. *Proc. Biol. Sci.*, 281(1797): 4–7.

Eleftherianos I, Marokhazi J, Millichap PJ, Hodgkinson AJ, Sriboonlert A, Ffrench-Constant RH, Reynolds SE, 2006. Prior infection of *Manduca sexta* with non-pathogenic *Escherichia coli* elicits immunity to pathogenic *Photorhabdus luminescens*: roles of immune-related proteins shown by RNA interference. *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 36(6): 517–525.

Ferro K, Ferro D, Corrà F, Bakiu R, Santovito G, Kurtz J, 2017. Cu, Zn superoxide dismutase genes in *Tribolium castaneum*: evolution, molecular characterisation, and gene expression during immune priming. *Front. Immunol.*, 8: 1811.

Fisher JJ, Hajek AE, 2015. Maternal exposure of a beetle to pathogens protects offspring against fungal disease. *PLoS ONE*, 10(5): e125197.

Freitak D, Heckel DG, Vogel H, 2009. Dietary-dependent trans-generational immune priming in an insect herbivore. *Proc. Biol. Sci.*, 276(1667): 2617–2624.

Freitak D, Schmidtberg H, Dickel F, Lochnit G, Vogel H, Vilcinskas A, 2014. The maternal transfer of bacteria can mediate trans-generational immune priming in insects. *Virulence*, 5(4): 547–554.

Futo M, Armitage SA, Kurtz J, 2015. Microbiota plays a role in oral immune priming in *Tribolium castaneum*. *Front. Microbiol.*, 6: 1383.

Futo M, Sell MP, Kutzer M, Kurtz J, 2017. Specificity of oral immune priming in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Biol. Lett.*, 13(12): 20170632.

Geary CD, Sun JC, 2017. Memory responses of natural killer cells. *Semin. Immunol.*, 31: 11–19.

González-Tokman DM, González-Santoyo I, Lanz-Mendoza H, Aguilar AC, 2010. Territorial damselflies do not show immunological priming in the wild. *Physiol. Entomol.*, 35(4): 364–372.

Gourbal B, Pinaud S, Beckers G, Van Der Meer J, Conrath U, Netea MG, 2018. Innate immune memory: an evolutionary perspective. *Immunol. Rev.*, 283(1): 21–40.

Greenwood JM, Ezquerra AL, Behrens S, Branca A, Mallet L, 2016. Current analysis of host-parasite interactions with a focus on next generation sequencing data. *Zoology (Jena)*, 119(4): 298–306.

Greenwood JM, Milutinovic B, Peuss R, Behrens S, Esser D, Rosenstiel P, Schulenburg H, Kurtz J, 2017. Oral immune priming with *Bacillus thuringiensis* induces a shift in the gene expression of *Tribolium castaneum* larvae. *BMC Genomics*, 18(1): 329.

Haine ER, Moret Y, Siva-Jothy MT, Rolff J, 2008. Antimicrobial defense and persistent infection in insects. *Science*, 322(5905): 1257–1259.

Hauton C, Smith VJ, 2007. Adaptive immunity in invertebrates: a straw house without a mechanistic foundation. *BioEssays*, 29(11): 1138–1146.

Hernandez LJ, Schuehly W, Crailsheim K, Riessberger-Galle U, 2014. Trans-generational immune priming in honeybees. *Proc. Biol. Sci.*, 281(1785): 20140454.

Hernandez-Martinez P, Naseri B, Navarro-Cerrillo G, Escriche B, Ferre J, Herrero S, 2010. Increase in midgut microbiota load induces an apparent immune priming and increases tolerance to *Bacillus thuringiensis*. *Environ. Microbiol.*, 12(10): 2730–2737.

Hillyer JF, 2016. Insect immunology and hematopoiesis. *Dev. Comp. Immunol.*, 58: 102–118.

Iwasaki A, Medzhitov R, 2015. Control of adaptive immunity by the innate immune system. *Nat. Immunol.*, 16(4): 343–353.

Johnston PR, Makarova O, Rolff J, 2013. Inducible defenses stay up late: temporal patterns of immune gene expression in *Tenebrio molitor*. *G3 (Bethesda)*, 4(6): 947–955.

Johnston PR, Rolff J, 2013. Immune- and wound-dependent differential gene expression in an ancient insect. *Dev. Comp. Immunol.*, 40(3–4): 320–324.

Kennedy M, Graham AL, Tate AT, 2017. Relative contributions of environmental and maternal factors to trans-generational immune priming in *T. castaneum*. *Ecol. Entomol.*, 42(1): 100–104.

Khan I, Prakash A, Agashe D, 2016. Divergent immune priming responses across flour beetle life stages and populations. *Ecol. Evol.*, 6(21): 7847–7855.

Khan I, Prakash A, Agashe D, 2017. Experimental evolution of insect immune memory versus pathogen resistance. *Proc. Biol. Sci.*, 284(1869): 20171583.

Kingsolver MB, Huang Z, Hardy RW, 2013. Insect antiviral innate immunity: pathways, effectors, and connections. *J. Mol. Biol.*, 425(24): 4921–4936.

Knorr E, Schmidtberg H, Arslan D, Bingsohn L, Vilcinskas A, 2015. Translocation of bacteria from the gut to the eggs triggers maternal transgenerational immune priming in *Tribolium castaneum*. *Biol. Lett.*, 11(12): 20150885.

Kurtz J, 2005. Specific memory within innate immune systems. *Trends Immunol.*, 26(4): 186–192.

Kurtz J, Armitage SA, 2006. Alternative adaptive immunity in invertebrates. *Trends Immunol.*, 27(11): 493–496.

Kurtz J, Franz K, 2003. Innate defence: evidence for memory in invertebrate immunity. *Nature*, 425(6953): 37–38.

Ladendorff NE, Kanost MR, 1991. Bacteria-induced protein P4 (hemolin) from *Manduca sexta*: a member of the immunoglobulin superfamily which can inhibit hemocyte aggregation. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 18(4): 285–300.

Lawniczak MKN, Barnes AI, Linklater JR, Boone JM, Wigby S, Chapman T, 2007. Mating and immunity in invertebrates. *Trends Ecol. Evol.*, 22(1): 48–55.

Lemaitre B, Hoffmann J, 2007. The host defense of *Drosophila melanogaster*. *Annu. Rev. Immunol.*, 25: 697–743.

Ligoxygakis P, 2017. Immunity: insect immune memory goes viral. *Curr. Biol.*, 27(22): R1218–R1220.

Lin YC, Chen JC, Morni WZ, Putra DF, Huang CL, Li CC, Hsieh JF, 2013. Vaccination enhances early immune responses in white shrimp *Litopenaeus vannamei* after secondary exposure to *Vibrio alginolyticus*. *PLoS ONE*, 8(7): e69722.

Little TJ, Kraaijeveld AR, 2004. Ecological and evolutionary implications of immunological priming in invertebrates. *Trends Ecol. Evol.*, 19(2): 58–60.

Loker ES, Adema CM, Zhang S, Kepler TB, 2004. Invertebrate immune systems – not homogeneous, not simple, not well understood. *Immunol. Rev.*, 198(1): 10–24.

Lü HS, 2008. Principles of Insect Immunology. Shanghai Scientific and Technical Publishers, Shanghai. ［吕鸿声, 2008. 昆虫免疫学原理. 上海: 上海科学技术出版社］

Luu H, Tate AT, 2017. Recovery and immune priming modulate the evolutionary trajectory of infection-induced reproductive strategies. *J. Evol. Biol.*, 30(9): 1748–1762.

Martins NE, Faria VG, Teixeira L, Magalhaes S, Sucena E, 2013. Host adaptation is contingent upon the infection route taken by pathogens. *PLoS Pathog.*, 9(9): e1003601.

McNamara KB, van Lieshout E, Simmons LW, 2014. The effect of maternal and paternal immune challenge on offspring immunity and reproduction in a cricket. *J. Evol. Biol.*, 27(6): 1020–1028.

Medina GH, Adame RG, Hernandez-Quintero A, Gonzalez HA, Torres GJ, Mendoza HL, Contreras-Garduno J, 2018. The occurrence of immune priming can be species-specific in entomopathogens. *Microb. Pathog.*, 118: 361–364.

Melillo D, Marino R, Italiani P, Boraschi D, 2018. Innate immune memory in invertebrate metazoans: a critical appraisal. *Front. Immunol.*, 9: 1915.

Mikonranta L, Mappes J, Kaukoniitty M, Freitak D, 2014. Insect immunity: oral exposure to a bacterial pathogen elicits free radical response and protects from a recurring infection. *Front. Zool.*, 11(1): 23.

Milutinović B, Fritzlar S, Kurtz J, 2014. Increased survival in the red flour beetle after oral priming with bacteria-conditioned media. *J. Innate Immun.*, 6(3): 306–314.

Milutinović B, Kurtz J, 2016. Immune memory in invertebrates. *Semin. Immunol.*, 28(4): 328–342.

Milutinović B, Peuß R, Ferro K, Kurtz J, 2016. Immune priming in arthropods: an update focusing on the red flour beetle. *Zoology*, 119(4): 254–261.

Miyashita A, Kizaki H, Kawasaki K, Sekimizu K, Kaito C, 2014. Primed immune responses to Gram-negative peptidoglycans confer infection resistance in silkworms. *J. Biol. Chem.*, 289(20): 14412–14421.

Moreau J, Moret Y, 2012. Trans-generational immune priming is constrained by the maternal immune response in an insect. *Oikos*, 121(11): 1828–1832.

Moreno-García M, Vargas V, Ramírez-Bello I, Hernández-Martinez G, Lanz-Mendoza H, 2015. Bacterial exposure at the larval stage induced sexual immune dimorphism and priming in adult *Aedes aegypti* mosquitoes. *PLoS ONE*, 10(7): e133240.

Moret Y, 2006. 'Trans-generational immune priming': specific enhancement of the antimicrobial immune response in the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. *Proc. Biol. Sci.*, 273(1592): 1399–1405.

Moret Y, Siva-Jothy MT, 2003. Adaptive innate immunity? Responsive-mode prophylaxis in the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. *Proc. Biol. Sci.*, 270(1532): 2475–2480.

Mukherjee K, Fischer R, Vilcinskas A, 2012. Histone acetylation mediates epigenetic regulation of transcriptional reprogramming in insects during metamorphosis, wounding and infection. *Front. Zool.*, 9(1): 25.

Mukherjee K, Twyman RM, Vilcinskas A, 2015. Insects as models to study the epigenetic basis of disease. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 118(1–2): 69–78.

Mukherjee K, Vilcinskas A, 2014. Development and immunity-related microRNAs of the lepidopteran model host *Galleria mellonella*. *BMC Genomics*, 15(1): 705.

Muller U, Vogel P, Alber G, Schaub GA, 2008. The innate immune system of mammals and insects. *Contrib. Microbiol.*, 15: 21–44.

Nava-Sánchez A, González-Tokman D, Munguía-Steyer R, Córdoba-Aguilar A, 2015. Does mating activity impair phagocytosis-mediated priming immune response? A test using the house cricket, *Acheta domesticus*. *Acta Ethol.*, 18(3): 295–299.

Nazario-Toole AE, Robalino J, Okrah K, Corrada-Bravo H, Mount SM, Wu LP, 2018. The splicing factor *RNA-binding Fox protein 1* mediates the cellular immune response in *Drosophila melanogaster*. *J. Immunol.*, 201(4): 1154–1164.

Netea MG, Quintin J, van der Meer JW, 2011. Trained immunity: a memory for innate host defense. *Cell Host Microbe*, 9(5): 355–361.

Ohno S, 1990. The first set of antigens confronted by the emerging immune system. *Chem. Immunol.*, 49: 21.

Ottaviani E, 2015. Invertebrate immunological memory: could the epigenetic changes play the part of lymphocytes? *Invertebr. Surv. J.*, 12: 1–4.

Park JW, Kim CH, Rui J, Park KH, Ryu KH, Chai JH, Hwang HO, Kurokawa K, Ha NC, Soderhill I, Soderhill K, Lee BL, 2010. Beetle immunity. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 708: 163–180.

Peuss R, Eggert H, Armitage SA, Kurtz J, 2015. Downregulation of the evolutionary capacitor Hsp90 is mediated by social cues. *Proc. Biol. Sci.*, 282(1819): 20152041.

Peuss R, Wensing KU, Woestmann L, Eggert H, Milutinovic B, Sroka MG, Scharsack JP, Kurtz J, Armitage SA, 2016. Down syndrome cell adhesion molecule 1: testing for a role in insect immunity, behaviour and reproduction. *R. Soc. Open Sci.*, 3(4): 160138.

Pham LN, Dionne MS, Shirasu-Hiza M, Schneider DS, 2007. A specific primed immune response in *Drosophila* is dependent on phagocytes. *PLoS Pathog.*, 3(3): e26.

Pham LN, Schneider DS, 2008. Evidence for specificity and memory in the insect innate immune response. *Insect Immunol.*, 5: 97–127.

Pradeu T, Du Pasquier L, 2018. Immunological memory: what's in a name? *Immunol. Rev.*, 283(1): 7–20.

Ramirez JL, de Almeida OG, Calvo E, Dalli J, Colas RA, Serhan CN, Ribeiro JM, Barillas-Mury C, 2015. A mosquito lipoxin/lipocalin complex mediates innate immune priming in *Anopheles gambiae*. *Nat. Commun.*, 6: 7403.

Reber A, Chapuisat M, 2012. No evidence for immune priming in ants exposed to a fungal pathogen. *PLoS ONE*, 7(4): e35372.

Riddell CE, Lobaton GJ, Adams S, Barribeau SM, Twell D, Mallon EB, 2014. Differential gene expression and alternative splicing in insect immune specificity. *BMC Genomics*, 15(1): 1031.

Rodrigues J, Brayner FA, Alves LC, Dixit R, Barillas-Mury C, 2010. Hemocyte differentiation mediates innate immune memory in *Anopheles gambiae* mosquitoes. *Science*, 329(5997): 1353-1355.

Roth O, Joop G, Eggert H, Hilbert J, Daniel J, Schmid-Hempel P, Kurtz J, 2010. Paternally derived immune priming for offspring in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *J. Anim. Ecol.*, 79(2): 403-413.

Roth O, Kurtz J, 2008. The stimulation of immune defence accelerates development in the red flour beetle (*Tribolium castaneum*). *J. Evol. Biol.*, 21(6): 1703-1710.

Roth O, Kurtz J, 2009. Phagocytosis mediates specificity in the immune defence of an invertebrate, the woodlouse *Porcellio scaber* (Crustacea: Isopoda). *Dev. Comp. Immunol.*, 33(11): 1151-1155.

Roth O, Sadd BM, Schmid-Hempel P, Kurtz J, 2009. Strain-specific priming of resistance in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Proc. Biol. Sci.*, 276(1654): 145-151.

Sadd BM, Schmid-Hempel P, 2006. Insect immunity shows specificity in protection upon secondary pathogen exposure. *Curr. Biol.*, 16(12): 1206-1210.

Sadd BM, Schmid-Hempel P, 2009. A distinct infection cost associated with trans-generational priming of antibacterial immunity in bumble-bees. *Biol. Lett.*, 5(6): 798-801.

Salmela H, Amdam GV, Freitak D, 2015. Transfer of immunity from mother to offspring is mediated via egg-yolk protein vitellogenin. *PLoS Pathog.*, 11(7): e1005015.

Schmid-Hempel P, 2005. Natural insect host-parasite systems show immune priming and specificity: puzzles to be solved. *BioEssays*, 27(10): 1026-1034.

Schmid-Hempel P, 2011. Evolutionary Parasitology: The Integrated Study of Infections, Immunology, Ecology and Genetics. Oxford University Press, New York.

Seeley JJ, Baker RG, Mohamed G, Bruns T, Hayden MS, Deshmukh SD, Freedberg DE, Ghosh S, 2018. Induction of innate immune memory via microRNA targeting of chromatin remodelling factors. *Nature*, 559(7712): 114-119.

Shi ZH, Lin YT, Hou YM, 2014. Mother-derived trans-generational immune priming in the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier (Coleoptera, Dryophthoridae). *Bull. Entomol. Res.*, 104(6): 742-750.

Sun SC, Lindstr MI, Boman HG, Faye I, Schmidt O, 1990. Hemolin: an insect-immune protein belonging to the immunoglobulin superfamily. *Science*, 250(4988): 1729-1732.

Tassetto M, Kunitomi M, Andino R, 2017. Circulating immune cells mediate a systemic RNAi-based adaptive antiviral response in *Drosophila*. *Cell*, 169(2): 314.

Taszlow P, Vertyporokh L, Wojda I, 2017. Humoral immune response of *Galleria mellonella* after repeated infection with *Bacillus thuringiensis*. *J. Invertebr. Pathol.*, 149: 87-96.

Tate AT, 2017. A general model for the influence of immune priming on disease prevalence. *Oikos*, 126(3): 350-360.

Tate AT, Andolfatto P, Demuth JP, Graham AL, 2017. The within-host dynamics of infection in trans-generationally primed flour beetles. *Mol. Ecol.*, 26(14): 3794-3807.

Tate AT, Graham AL, 2015. Trans-generational priming of resistance in wild flour beetles reflects the primed phenotypes of laboratory populations and is inhibited by co-infection with a common parasite. *Funct. Ecol.*, 29(8): 1059-1069.

Tate AT, Rudolf VHW, 2012. Impact of life stage specific immune priming on invertebrate disease dynamics. *Oikos*, 121(7): 1083-1092.

Thomas AM, Rudolef VHW, 2010. Challenges of metamorphosis in invertebrate hosts: maintaining parasite resistance across life-history stages. *Ecol. Entomol.*, 35(2): 200-205.

Tidbury HJ, Best A, Boots M, 2012. The epidemiological consequences of immune priming. *Proc. Biol. Sci.*, 279(1746): 4505-4512.

Tidbury HJ, Pedersen AB, Boots M, 2011. Within and transgenerational immune priming in an insect to a DNA virus. *Proc. Biol. Sci.*, 278(1707): 871-876.

Torre C, Tsoumtsa LL, Ghigo É, 2017. La mémoire immunitaire entraînée chez les invertébrés: Que sait-on? *Med. Sci. M/S*, 33(11): 979-983.

Trauer U, Hilker M, 2013. Parental legacy in insects: variation of transgenerational immune priming during offspring development. *PLoS ONE*, 8(5): e63392.

Trauer-Kizilelma U, Hilker M, 2015. Insect parents improve the anti-parasitic and anti-bacterial defence of their offspring by priming the expression of immune-relevant genes. *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 64: 91-99.

Uttenweiler-Joseph S, Moniatte M, Lagueux M, Van Dorsselaer A, Hoffmann JA, Bulet P, 1998. Differential display of peptides induced during the immune response of *Drosophila*: a matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry study. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95(19): 11342-11347.

Valdez A, Yepiz-Plascencia G, Ricca E, Olmos J, 2014. First *Litopenaeus vannamei* WSSV 100% oral vaccination protection using CotC::Vp26 fusion protein displayed on *Bacillus subtilis* spores surface. *J. Appl. Microbiol.*, 117(2): 347-357.

Vilcinskas A, 2016. The role of epigenetics in host-parasite coevolution: lessons from the model host insects *Galleria mellonella* and *Tribolium castaneum*. *Zoology (Jena)*, 119(4): 273-280.

Wang S, Dos-Santos A, Huang W, Liu KC, Oshaghi MA, Wei G, Agre P, Jacobs-Lorena M, 2017. Driving mosquito refractoriness to *Plasmodium falciparum* with engineered symbiotic bacteria. *Science*, 357(6358): 1399-1402.

Watson FL, Puttmann-Holgado R, Thomas F, Lamar DL, Hughes M, Kondo M, Rebel VI, Schmucker D, 2005. Extensive diversity of Ig-superfamily proteins in the immune system of insects. *Science*, 309(5742): 1874–1878.

Weavers H, Evans IR, Martin P, Wood W, 2016. Corpse engulfment generates a molecular memory that primes the macrophage inflammatory response. *Cell*, 165(7): 1658–1671.

Whitfield ZJ, Dolan PT, Kunitomi M, Tassetto M, Seetin MG, Oh S, Heiner C, Paxinos E, Andino R, 2017. The diversity, structure, and function of heritable adaptive immunity sequences in the *Aedes aegypti* genome. *Curr. Biol.*, 27(22): 3511–3519.

Wu G, Li M, Liu Y, Ding Y, Yi Y, 2015a. The specificity of immune priming in silkworm, *Bombyx mori*, is mediated by the phagocytic ability of granular cells. *J. Insect Physiol.*, 81: 60–68.

Wu G, Yi Y, Lv Y, Li M, Wang J, Qiu L, 2015b. The lipopolysaccharide (LPS) of *Photorhabdus luminescens* TT01 can elicit dose- and time-dependent immune priming in *Galleria mellonella* larvae. *J. Invertebr. Pathol.*, 127: 63–72.

Wu G, Yi Y, Sun J, Li M, Qiu L, 2015c. No evidence for priming response in *Galleria mellonella* larvae exposed to toxin protein $PirA_2B_2$ from *Photorhabdus luminescens* TT01: an association with the inhibition of the host cellular immunity. *Vaccine*, 33(46): 6307–6313.

Wu G, Zhao Z, Liu C, Qiu L, 2014. Priming *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae with heat-killed bacterial cells induced an enhanced immune protection against *Photorhabdus luminescens* TT01 and the role of innate immunity in the process. *J. Econ. Entomol.*, 107(2): 559–569.

Zanchi C, Troussard JP, Martinaud G, Moreau J, Moret Y, 2011. Differential expression and costs between maternally and paternally derived immune priming for offspring in an insect. *J. Anim. Ecol.*, 80(6): 1174–1183.

Zanchi C, Troussard JP, Moreau J, Moret Y, 2012. Relationship between maternal transfer of immunity and mother fecundity in an insect. *Proc. Biol. Sci.*, 279(1741): 3223–3230.

Zernoff V, 1927. L'immunity passive chez les *Galleria mellonella*. *C. R. Soc. Biol.*, 97: 1696–1698.

（责任编辑：赵利辉）